Laboratorio di Patologia Generale della R. Università di Torino
diretto dal Prof. *C. Sacerdotti*

Sugli eritrociti granulosi

NOTA

del dottor Vittorio Marzocchi
assistente

5
226

Estratto dalla **Riforma Medica**, *anno XX, num. 2*

PALERMO
STAB. TIP. F. ANDÒ — SEZ. DELLA *Riforma Medica*
Via Celso N. 61, 63.

Laboratorio di Patologia Generale della R. Università di Torino
diretto dal Prof. *C. Sacerdotti*

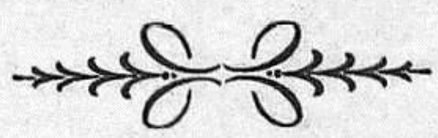
Sugli eritrociti granulosi

NOTA

del dottor Vittorio Marzocchi

assistente

Estratto dalla **Riforma Medica**, *anno XX, num. 2*



PALERMO
STAB. TIP. F. ANDÒ — SEZ. DELLA *Riforma Medica*
Via Celso N. 61, 63.

Nel 1901 Cesaris Demel [1] comunicò all'Accademia delle Scienze di Torino i risultati d'alcune sue ricerche comparative riguardanti gli eritrociti granulosi colorabili a fresco coll'azzurro di metilene, e quelli colorabili, pure a fresco, col rosso neutro. Fondandosi sul fatto che l'aspetto e la disposizione dei granuli nell'uno e nell'altro caso si presentano uguali, il nominato autore concluse per la loro identità. M. Donati [2] in un lavoro comparso recentemente, si pronunzia pure in questo senso, osservando che il reperto di eritrociti a granuli cianofili coincide sempre con quello di eritrociti a granuli eritrofili, cosicchè « se in un dato sangue questi non si trovano, neppure si osservano quelli a granuli cianofili ».

Non sono a mia conoscenza altri lavori nei quali tale questione sia stata trattata di proposito: aggiungerò soltanto che da molti autori l'identità delle due sorta di granuli è ammessa senz'altro. Mi parve opportuno riprendere questo argomento, anzitutto perchè giudicavo che nessuna delle prove sopra riportate potesse dirsi veramente decisiva; in secondo luogo perchè una esperienza ormai lunga ha insegnato che assai difficilmente, quando si trattino due saggi dello stesso sangue coll'uno e coll'altro dei due colori, i risultati numerici dei conteggi degli eritrociti a granuli eritrofili e di quelli a granuli cianofili coincidono esattamente. Sebbene quest'ultimo fatto potesse attribuirsi o ad una maggiore o minore fi-

---

[1] Atti della R. Accad. delle Sc. di Torino 1901.

[2] *Giornale Ital. delle Sc. mediche* 1903.

nezza dell'uno dei due metodi, ovvero ancora ad un'attitudine individuale di ogni singolo osservatore a percepire meglio una tinta che l'altra, anzichè ad una reale differenza fra le due forme di eritrociti, non rimaneva perciò diminuito l'interesse della ricerca.

Mi parve che l'unico argomento veramente decisivo per la questione avrebbe potuto essere fornito dalla osservazione diretta sotto al microscopio di eritrociti contenenti granuli già colorati o coll'azzurro di metilene o col rosso neutro, in cui riuscisse di sostituire l'un colore coll'altro.

Tracciata così la via, ecco il metodo che seguii nei miei esperimenti. Tenni pronte delle soluzioni di bleu di metilene secondo le formule di Poggi [3] (acqua 1000, cloruro sodico 10, azzurro di metilene 0,50) e di Guarnieri e Daddi [4] (acqua 100 cloruro sodico 0,90, azzurro di metilene 3-5); tenni pure pronta una soluzione satura di rosso neutro in acqua distillata, della quale, al momento di servirmene, mescolavo alcune goccie con una certa quantità di soluzione fisiologica di cloruro sodico, fino ad ottenere un colore rosso chiaro. Il sangue mi fu fornito da due ratti albini giovani e da due conigli, uno dei quali era stato in precedenza abbondantemente salassato.

Quando, esaminando al microscopio un saggio di sangue trattato coll'una delle due soluzioni d'azzurro di metilene sopradette, trovavo un certo numero d'eritrociti granulosi ben colorati precipitati nel fondo del preparato e perciò meno facili ad essere spostati da eventuali correnti del liquido ambiente, facevo passare fra i due vetrini una goccia della soluzione di rosso neutro, e tenevo l'occhio fisso su quei determinati eritrociti, per sorprendervi gli eventuali cambiamenti di colore.

Quando invece avevo sotto al microscopio un preparato di sangue trattato col rosso neutro, trovato il punto adatto, usavo far passare sotto al coprioggetti una goccia del liquido di Guarnieri e Daddi, e, dopo parecchi minuti, allo scopo di rendere più facile l'osservazione scacciavo l'azzurro di metilene con una goccia di

---

[3] *Il Policlinico*, 1898 : N. 2-5.

[4] Nel volume per le onoranze al Prof. Luciani, Milano 1900.

soluzione fisiologica: tutto ciò, ben inteso, senza perder di vista quegli eritrociti sui quali fin dal principio avevo fissato l'attenzione.

Procedendo così, potei vedere che gli eritrociti granulosi trattati coll'azzurro di metilene assumono per l'aggiunta di rosso neutro una spiccatissima tinta rossa. Questo mutamento di colore avviene per lo più rapidamente, talvolta anzi quasi istantaneamente; tuttavia può accadere di dover aspettare qualche tempo, ed insistere coll'aggiunta del rosso neutro, perchè tale mutamento si produca. Ad ogni modo però esso è costante.

Analogamente si comportano i granuli di eritrociti colorati primitivamente col rosso neutro, quando vengano trattati coll'azzurro di metilene secondo le modalità sopra dette: si osserva soltanto che il fenomeno si compie un po' più lentamente.

Quanto ai minuti particolari del processo, conviene anzitutto dire che esso può avvenire in due modi. O il preparato viene dapprima completamente decolorato, e quindi ricolorato; ovvero il secondo colore si sovrappone al primo, e lo scaccia gradatamente, passando così la tinta dei granuli per tutti i toni intermedii fra i due. Sia nell'uno che nell'altro caso, non resta alla fine alcuna traccia del primo colore, ed i granuli appaiono come se fossero stati primitivamente trattati col secondo. È appena necessario che io soggiunga che avevo sempre cura di notare se la forma e la disposizione dei granuli negli eritrociti in esame, dopo l'aggiunta del secondo colore corrispondessero esattamente a quelle che mostravano prima: ciò per allontanare il dubbio che potesse trattarsi di altri granuli colorantisi nello stesso eritrocito.

La possibilità della sostituzione d'un colore coll'altro prova all'evidenza l'identità delle granulazioni eritrofile e cianofile dei globuli rossi. Per quanto poi concerne la causa di questa sostituzione, conviene fin dal principio escludere che l'uno dei due colori abbia per detti granuli un'affinità maggiore che non l'altro, perchè, se il rosso scaccia l'azzurro, questo alla sua volta, è pure capace di scacciare quello. A parer mio il fatto deve spiegarsi nel modo seguente. Quando il preparato di sangue è colorato coll'uno dei due colori in questione, questo si trova al tempo stesso fissato sui granuli e diffuso uni-

formemente nel liquido ambiente. Quando si aggiunge il secondo colore questo non si mescola col primo, ma si sostituisce ad esso, respingendolo dal lato opposto del preparato, come si vede benissimo anche macroscopicamente. I granuli degli eritrociti nella porzione invasa dal secondo colore, o hanno fissato il primo con legami tanto labili da venire senz'altro lavati istantaneamente, e successivamente ricolorati, ovvero, se pure lo trattengono per qualche tempo, trovandosi immersi in una soluzione del secondo colore ed essendo perciò questo ultimo in notevole prevalenza, vengono poco per volta decolorati pel ridisciogliersi del primo colore, mentre in pari tempo s'inizia la ricolorazione. Per questo appunto la tinta dei granuli stessi assume dei toni intermedi fra il rosso e l'azzurro.

Tutto ciò dimostra la grande labilità del legame che unisce ai granuli in questione la sostanza colorante, sia essa il rosso neutro o l'azzurro di metilene.

Volli ancora esperimentare trattando sangue con una miscela risultante da una goccia della soluzione di Guarnieri e Daddi e da una goccia della soluzione di rosso neutro. Osservai che i granuli si colorano prima in rosso, e poi gradatamente assumono il colore azzurro: altre volte invece accade che i granuli stessi assumano tosto un colorito brunastro o violaceo, oppure anche rimangano incolori, per mostrarsi poi dopo diverse ore definitivamente azzurri. Si tratta con tutta probabilità nei primi casi, che sono i più favorevoli, di una prima colorazione dei granuli col rosso neutro, che è molto pronta, e di una successiva sovrapposizione dell'azzurro di metilene, più lento a colorare, ma prevalente nel preparato: e ciò è tanto vero che in alcuni casi, avendo scarseggiato coll'azzurro, i granuli erano ancora rossi dopo molte ore.

Desidero da ultimo far menzione d'un fenomeno osservato con discreta frequenza nel corso delle mie ricerche. Mentre, dopo l'aggiunta del secondo colore, si verifica la sostituzione di questo al primo, accade sovente che i globuli rossi granulosi si trasformino gradatamente in ombre pur conservando inalterata la forma e la disposizione dei loro granuli. Accade pure talvolta che anche i globuli rossi non granulosi esistenti nel campo mi-

croscopico si riducano ad ombre, ed in tal caso alcuni di essi possono presentare alla periferia qualche granello colorato.

A qual fattore sia dovuto questo fenomeno non so per ora determinare: credo di poter escludere che si tratti di sostanze tossiche prodottesi nella miscela del rosso neutro col bleu di metilene, perchè, ponendo una goccia di sangue direttamente in tale miscela neppure dopo parecchie ore possono osservarsi fenomeni emolitici così spiccati.

Concludendo dunque dirò che dalle mie ricerche risulta che i granuli eritrofili ed i cianofili degli eritrociti sono veramente identici fra loro, e che fissano la sostanza colorante, sia azzurra che rossa, mediante legami molto labili.

Mi è grato rivolgere sentite grazie all'egregio prof. Sacerdotti per l'aiuto di cui mi fu cortese nel corso di queste mie ricerche.